N° 29. **Pierre Tardent,** Zürich. — Experimente zur Frage der Geschlechtsbestimmung bei *Hydra attenuata* (Pall.). (Avec 3 figures dans le texte.)

Zool. Institut der Universität, Zürich.

a. Einleitung

Die geschlechtlichen Funktionszustände von *Hydra attenuata* (Pall.) entsprechen weder einem strengen Gonochorismus noch einem echten Hermaphroditismus. Die Getrenntgeschlechtigkeit, die sich darin äussert, dass einzelne Individuen dem männlichen resp. weiblichen Funktionszustand über lange Zeitspannen hinweg treu bleiben, herrscht vor. Es kommt jedoch innerhalb von eingeschlechtigen Klonen relativ häufig zur Geschlechtsumkehr in beiden Richtungen (Kuwabara 1936, Brien und Reniers-Decoen 1951, Tardent 1966 et al.). Diese vereinzelt auftretenden spontanen Inversionen leiten in der Regel zu einem neuen wiederum stabilen Determinationszustand über (Tardent 1966). Die seltenen Fälle von echtem Zwittertum beschränken sich stets auf eine einzige Sexualperiode und treten immer im Zusammenhang mit einer Geschlechtsumkehr auf.

Da unter frisch geschlüpften Polypen dieser Art beide Geschlechter vertreten sind und sich die Folge und Richtung der Inversionen keiner Gesetzmässigkeit unterziehen, ist das Inversionsphänomen nicht mit einer Proterandrie oder Proterogynie im klassischen Sinne vergleichbar. Die Art der geschlechtlichen Determinationszustände äussert sich hier in der Form eines labilen Gonochorismus oder, im Sinne der Terminologie von Bacci (1950), eines nicht balancierten Hermaphroditismus.

Die Ursachen der sporadisch auftretenden, spontanen Inversionen sind noch unbekannt. Diese können jedoch auf experimentellem Weg herbeigeführt werden. Goetsch (1922) und Wiese (1953) hatten mit Hilfe der Transplantationstechnik versucht, Sexualchimären d.h. künstliche Zwitter von *Hydra attenuata* herzustellen. Die aus Teilstücken beider Geschlechter zusammengesetzten Indi-

viduen blieben jedoch nicht Zwitter, sondern wurden in der Folge entweder weiblich oder männlich. Brien (1962, 1964) hat später bei der streng gonochoristischen Art *Hydra fusca* zeigen können, dass im heterosexuellen Parabioseversuch der weibliche Funktionszustand durch die Anwesenheit des männlichen Transplantats unterdrückt wird, d.h. dass sich in den Sexualchimären jener Art das männliche Geschlecht durchsetzt. Brien vermutet, dass dieses Phänomen nicht die unmittelbare Folge eines Überwanderns männlicher Keimzellen in den weiblichen Partner ist, sondern dass es möglicherweise auf einer stofflichen Beeinflussung beruht, wobei ein mit einem Sexualhormon vergleichbarer Faktor zu postulieren wäre. Mit diesem noch ungelösten Problem ist auch das Thema aufgezeigt, das der vorliegenden Arbeit über den Mechanismus der Geschlechtsdetermination zugrunde liegt.

b. Material und Methode

Über die Herkunft, die Haltung und verschiedene Aspekte der Sexualbiologie von *Hydra attenuata* (Pall.) wurde schon an anderer Stelle (Tardent 1966) eingehend berichtet. Da kein auffälliger Geschlechtsdimorphismus vorliegt, kann das Geschlecht eines Polypen nur dann mit Sicherheit erkannt werden, wenn dieser in eine Sexualperiode eintritt und Ovarien resp. Hoden bildet. Die für die Herstellung von Sexualchimären verwendeten Tiere mussten deshalb schon in der dem Versuch vorangegangenen Sexualperiode nach Geschlecht und Klon-Zugehörigkeit sortiert und isoliert werden.

Das einfachste Experiment besteht darin, distale und proximale Hälften männlicher und weiblicher Polypen in reziproker Anordnung zur Verwachsung zu bringen (Fig. 1 A). Die beiden Hälften werden auf eine an ihren beiden Enden stumpf-geschmolzene Glaskapillare von ca. 0.2 mm Durchmesser aufgereiht. Damit sie nicht voneinanderweichen können, werden sie mit Hilfe von zwei aufgeweichten, ebenfalls auf die Kapillare geschobenen Gelatineplättchen aneinandergepresst. Ungefähr eine Stunde nach erfolgter Transplantation ist die Verwachsung der Partner soweit fortgeschritten, dass die Gelatineplättchen entfernt und die Hydren von der Kapillare geschoben werden können. Da die Verwachsungs-

naht schon nach einigen Stunden verschwindet und sich die Fragmente komplementär ergänzen, entspricht das Resultat der Operation einem völlig normalen Polypen, der bei guter Fütterung rasch zur Bildung vegetativer Knospen übergeht. Diese werden im Laufe des Experiments wie die Pfropf-Chimären einzeln in Halbrundschalen isoliert und überwacht. Der Zustand der Tiere wird in Abständen von 2 Tagen protokolliert. Die Fütterung mit Seeplankton verbunden mit einem Wasserwechsel erfolgt zweimal wöchentlich. Der aus diesem Vorgehen resultierende Funktionszustand der Chimären und ihrer Knospen kann erst anlässlich der ersten postoperativen Sexualperiode registriert werden. Eine Gewissheit über die Stabilität des Determinationszustandes kann aber nur dann erlangt werden, wenn die Überwachung der Versuchstiere über mehrere postoperative Sexualperioden ausgedehnt wird.

In einer zweiten, analogen Versuchsreihe wurden unter Ausnützung der gleichen Technik Sexual-Chimären erzeugt, deren männlicher Anteil sich auf Hypostom und Tentakelkranz resp. Stielteil beschränkt (Fig. 2 A).

In der letzten Versuchsserie endlich wurden die männlichen Hälften der Sexualchimären unmittelbar vor ihrer Vereinigung mit dem weiblichen Partner mit 6500 r bestrahlt [1]. Diese Dosis ist für *Hydra* letal (Zawarzin 1928, Strelin 1928, Brien und Reniers-Decoen 1955) und führt ca. 20 Tage nach erfolgter Bestrahlung zum langsamen Zerfall bestrahlter Tiere. Diesem Zerfall kann jedoch Einhalt geboten werden, wenn bestrahlte Körperteile auf gesunde, nicht bestrahlte Fragmente transplantiert werden (Evlakhova 1946). Die Strahlungsschäden werden — wie zu vermuten ist — dadurch rückgängig gemacht, dass interstitielle Zellen, Nematoblasten und Nematocyten aus dem unbehandelten Teil in die bestrahlte Nachbarregion einwandern (Tardent und Morgenthaler 1966). Pfropfchimären, bei denen die männliche Hälfte mit 6500 r bestrahlt worden war, entwickeln sich deshalb normal, bilden vegetative Knospen und Gonaden. Die technischen Angaben betr. Röntgenbestrahlung sind an einer anderen Stelle veröffentlicht worden (Tardent und Morgenthaler 1966).

---

[1] Die Bestrahlung wurde mit der Röntgen-Anlage des Zool. Instituts der ETH durchgeführt. Herrn Prof. H. Ulrich und seinen Mitarbeitern, den Herren Dr. F. Würgler und H. Spring, danke ich für die Mithilfe und die wertvollen Ratschläge.

c. Resultate

1. Versuchsreihe (Fig. 1)

In dieser Versuchsreihe wurden, wie Fig. 1 A erläutert, männliche und weibliche unbestrahlte Halb-Polypen in reziproker Anordnung zusammengesetzt. In der auf die Operation folgenden Beobachtungsperiode wurden die Chimären sowie die ersten 5 von diesen erzeugten Knospen auf ihren sexuellen Funktionszustand hin untersucht. Als Kontrollen dienten je 5 männliche und weibliche, aus den gleichen Klonen stammende Individuen, bei denen die Stabilität des geschlechtlichen Determinationszustandes überprüft wurde. Fig. 1 B, die die Resultate dieser Versuchsreihe wiedergibt, zeigt, dass diese Kontrolltiere während der zweimonatigen Beobachtungsperiode ihrem ursprünglichen Determinationszustand weitgehend treu blieben. In einem einzigen Fall entsprach das Geschlecht einer Knospe nicht demjenigen des Stamm-Polypen und bei drei weiteren Knospen konnte das Geschlecht nicht festgestellt werden, weil sie infolge einer Depression frühzeitig starben.

Die Sexualchimären und ihre Knospen dagegen erwiesen sich im Laufe der ersten postoperativen Sexualperiode von zwei Ausnahmen abgesehen als männlich, ungeachtet dessen, ob das männliche Halbstück in der Chimäre eine distale oder proximale Position inne hatte. Zwei Knospen allerdings bildeten Ovarien. Diese beiden Ausnahmen könnten jedoch auf eine von der operativen Massnahme unabhängige spontane Inversion zurückgeführt werden, wie sie ja auch vereinzelt bei männlichen Kontrolltieren beobachtet werden konnte (Tardent 1966).

Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass bei den aus Halbtieren zusammengesetzten Sexualchimären der weibliche Funktionszustand unterdrückt wird, und dass die vom männlichen Partner ausgehende vermännlichende Wirkung sich auch auf die vegetativen Nachkommen der Chimären überträgt (vergl. auch Kontrollen der 3. Versuchsreihe, Fig. 3 B). Der Frage, wie gross der männliche Anteil der Chimären sein muss, damit sich dieser durchzusetzen vermag, ist die folgende Versuchsreihe gewidmet.

2. Versuchsreihe (Fig. 2).

Die Versuchsanordnung (Fig. 2 A) ist grundsätzlich gleich wie in der soeben beschriebenen Versuchsserie, mit dem einzigen Unter-

schied, dass jetzt die männlichen Anteile der Sexualchimären gegenüber denjenigen der weiblichen Partner hinsichtlich ihrer Grösse stark benachteiligt sind.

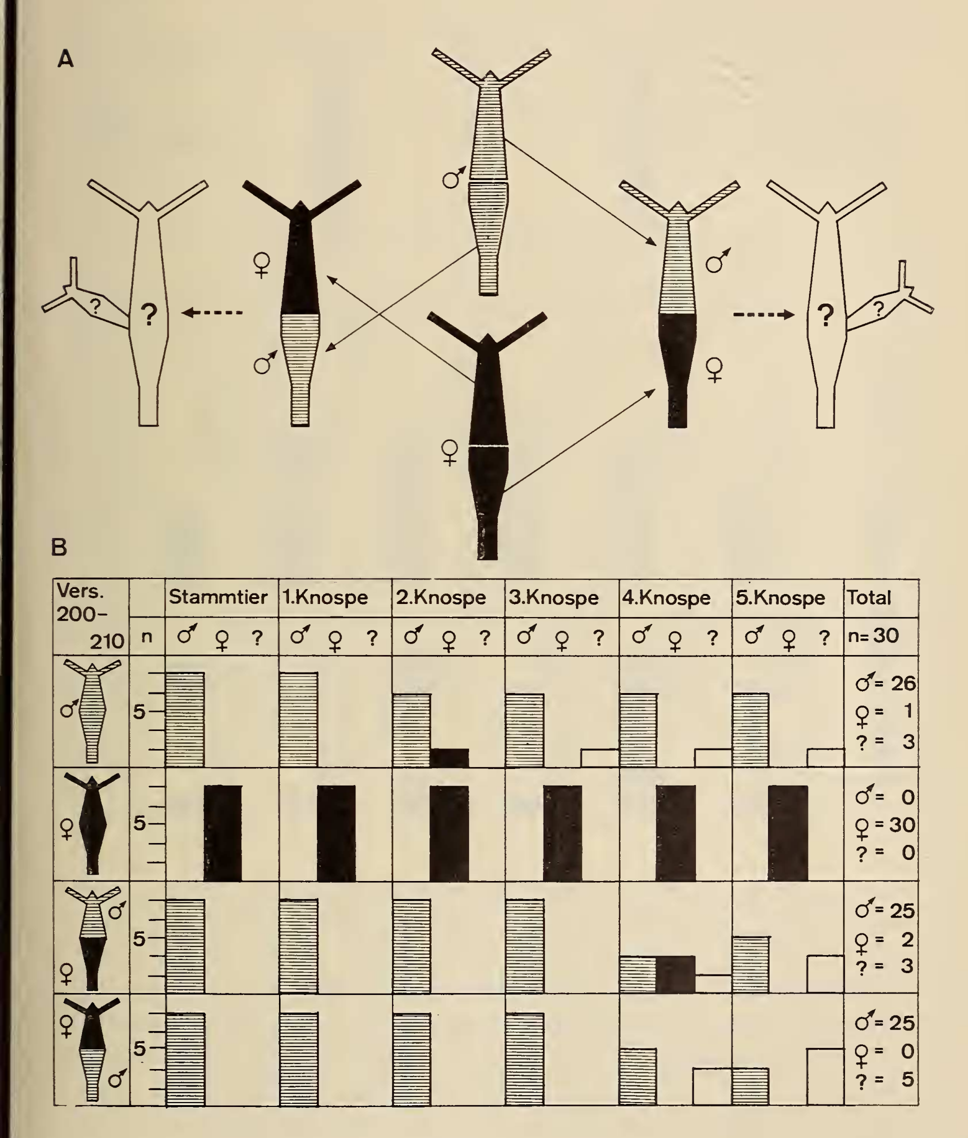


Fig. 1

Versuchsanordnung (A) und Resultate (B) der 1. Versuchsreihe.

Die Resultate zeigen (Fig. 2 B), dass ein hoher Prozentsatz der Sexualchimären, deren männlicher Anteil sich auf den Apical-

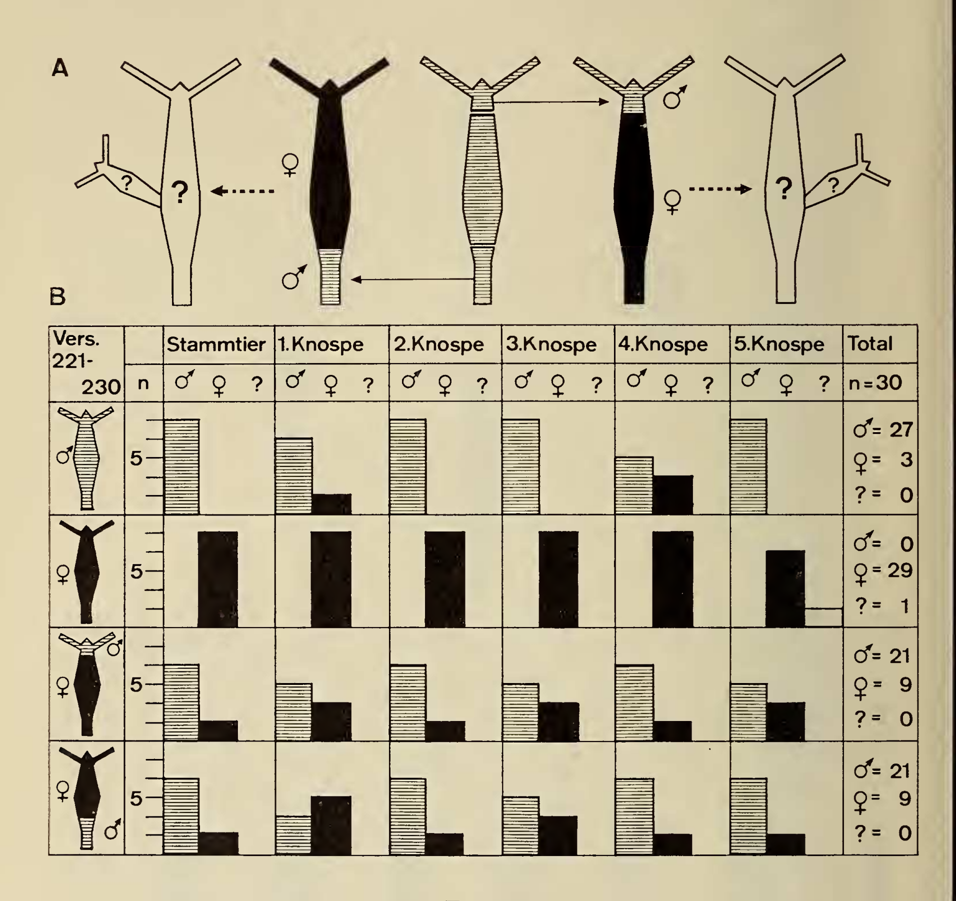


Fig. 2.

Versuchsanordnung (A) und Resultate (B) der 2. Versuchsreihe.

komplex (Mundfeld und Tentakelkranz) beschränkt, zum männlichen Funktionszustand übergeht. Dies gilt auch für die Chimären, bei denen ein kurzes Stück einer männlichen Polypenbasis (Stielteil) mit einem komplementären weiblichen Teilstück zur Verwachsung gebracht wurde. Die Vermännlichung der Chimären und ihrer Knospen ist in beiden Fällen nicht so ausgesprochen wie in der Versuchsreihe 1, aber sie ist doch deutlich genug, um demonstrieren

zu können, dass auch grosse weibliche Teilstücke von kleinen männlichen Transplantaten distalen und proximalen Ursprungs umgestimmt werden können.

3. Versuchsreihe (Fig. 3).

In dieser Versuchsreihe wurden die männlichen Partner der Sexualchimären unmittelbar vor ihrer Vereinigung mit den weib-

Vers. 361–390		Stammtier	1. Knospe	2. Knospe	Total
	n	♂ ♀ ?	♂ ♀ ?	♂ ♀ ?	n = 30
♂ ♀	10				♂ = 30 ♀ = 0 ? = 0
♂ ♀	10				♂ = 0 ♀ = 27 ? = 3
♀ ♂	10				♂ = 30 ♀ = 0 ? = 0
♀ ♂	10				♂ = 0 ♀ = 21 ? = 9

Fig. 3.

Resultate der 3. Versuchsreihe (Versuchsanordnung siehe Fig. 1 A).

lichen Teilstücken mit 6500 r bestrahlt. Mit Ausnahme dieser zusätzlichen Massnahme bleibt die Versuchsanordnung jedoch gleich wie die der 1. Versuchsreihe (Fig. 1 A). Als Kontrolle dienen nun reziproke Chimären, deren männlicher Anteil nicht bestrahlt wurde. Wie Fig. 3 zeigt, verhalten sich diese Kontroll-Chimären und ihre Knospen genau wie Chimären der 1. Versuchsreihe; d.h. alle gehen zum männlichen Geschlecht über.

Diejenigen Chimären jedoch, deren männliche Hälfte der Wirkung von Röntgenstrahlen ausgesetzt worden waren, erwiesen sich in der Folge ausnahmslos als weiblich. Dies gilt auch für die

von ihnen gebildeten Knospen. Die Röntgenbehandlung hat demzufolge zwei Wirkungen:

1. sie neutralisiert den vom männlichen Transplantat ausgehenden vermännlichenden Effekt.
2. sie unterdrückt im männlichen Teil den männlichen Funktionszustand zugunsten des weiblichen.

d. Diskussion

Die verschiedenen Phänomene des Sexualverhaltens der labil gonochoristischen *Hydra attenuata* (Pall.) (Kuwabara 1936, Brien & Reniers-Decoen 1951, Wiese 1953, Tardent 1966), insbesondere das Auftreten von spontanen Inversionen und dasjenige hermaphroditischer Individuen, sprechen für einen phänotypischen Determinationsmechanismus. In diesem Sinne sind — wie mir scheint — auch die Ergebnisse der hier besprochenen Parabiose-Versuche zu deuten. Infolge des Kontaktes mit männlichen Fragmenten wird der sexuelle Funktionszustand der komplementären weiblichen Partner invertiert, wobei es zu untersuchen gilt, auf welchem Weg das männliche Transplantat seinen Einfluss geltend macht. Es müssen dabei die folgenden zwei Möglichkeiten erwogen werden:

1. Die Vermännlichung des weiblich determinierten Systems erfolgt auf stofflichem d.h. hormonalem Weg.
2. Männlich determinierte Keimzellen, in diesem Fall interstitielle Zellen, dringen in den benachbarten weiblichen Teil der Chimäre ein. Ihre Anwesenheit bewirkt in diesem eine Inversion des sexuellen Funktionszustandes.

Die erste erwähnte Möglichkeit kann durch keinen der vorliegenden Befunde vollständig entkräftet werden. Alle Versuche, eine Vermännlichung weiblicher Polypen durch Behandlung mit männlichen Extrakten herbeizuführen, sind erfolglos geblieben (Tardent unveröffentlicht). Die negativen Resultate sind jedoch nicht schlüssig, weil nicht festgestellt werden kann, ob die aktive Komponente der Extrakte, falls eine solche vorliegt, ihren Wirkungsort überhaupt erreichen kann. Falls tatsächlich ein vermännlichendes

Agens für die beschriebene Wirkung verantwortlich ist, kann dieses — wie wir aus den Bestrahlungs-Versuchen schliessen müssen — durch Röntgenstrahlen inaktiviert werden.

Die Befunde sprechen — wie mir scheint — mehr zugunsten der zweiten Möglichkeit. In einer anderen Arbeit konnte gezeigt werden (Tardent und Morgenthaler 1966), dass zwischen männlichen und weiblichen Partnern von Sexualchimären ein reger Austausch von individuell wandernden Zellen herrscht. Unter diesen finden sich u.a. auch die als Keim-Zellen in Frage kommenden I-Zellen (Brien und Reniers-Decoen 1951, Brien 1964). Es ist ausserdem bekannt (Evlakhova 1946, Brien und Reniers-Decoen 1955), dass sich gerade diese Zellen durch eine grosse Röntgen-Empfindlichkeit auszeichnen und deshalb in bestrahlten Fragmenten selektiv ausgeschaltet werden. Diese Tatsachen lassen vermuten, dass in normalen Sexualchimären männlich determinierte Keimzellen in den weiblichen Nachbarn übertreten und dort die Population weiblicher Keimzellen in einer noch unbekannten Weise an der Ausübung ihrer Funktionen hindern oder sie sogar umdeterminieren. Werden die Keimzellen des männlichen Teils jedoch durch Bestrahlung ausgeschaltet, vermag sich, da die erwähnte Invasion ausbleibt, der weibliche Anteil der Chimäre durchzusetzen, wobei nun weiblich determinierte Keimzellen in den von Keimzellen verwaisten männlichen Partner eindringen. Gegen diese Interpretation des Phänomens spricht jedoch die Tatsache, dass auch kleine männliche Transplantate, die wenig interstitielle Zellen enthalten, wie z.B. die Polypenbasis (Tardent 1954) die Fähigkeit besitzen, in grossen weiblichen Fragmenten eine Inversion herbeizuführen (Fig. 2 B).

Keine der beiden Hypothesen kann also mit dem zurzeit verfügbaren Belegmaterial endgültig bestätigt resp. widerlegt werden. Es wird notwendig sein, das Verhalten der Keimzellen in Sexualchimären mittels Isotopenmarkierung genauer zu untersuchen.

Mit Sicherheit kann jedoch gesagt werden, dass die Geschlechtsdetermination bei *Hydra attenuata* (Pall.) nicht einem im apicalen Organbereich (Brien 1953) lokalisierten und in distoproximaler Richtung wirkenden Organisator-Zentrum unterworfen ist, wie dies von Burnett (1965) postuliert wird; denn es konnte in dieser Arbeit deutlich gezeigt werden (2. Versuchsserie, Fig. 2 B),

dass eine Veränderung eines Determinationszustandes auch durch Transplantation von proximalen Körperteilen herbeigeführt werden kann, die ihren Einfluss in entgegengesetzter, also proximo-distaler, Richtung geltend machen.

Zusammenfassung

1. *Hydra attenuata* (Pall.) ist eine labil gonochoristische Art, bei der spontane Inversionen des geschlechtlichen Funktionszustandes relativ häufig, echter Hermaphroditismus jedoch sehr selten vorkommen.

2. Werden komplementäre Fragmente weiblicher und männlicher Hydren in verschiedener Anordnung zur Verwachsung gebracht, so treten diese Sexualchimären und ihre Knospen fast ausnahmslos zum männlichen Funktionszustand über. Es genügen schon relativ kleine Transplantate (z.B. Stielteil), um eine Vermännlichung des benachbarten weiblichen Partners herbeizuführen.

3. Diese Wirkung unterbleibt jedoch, wenn der männliche Partner vor der Transplantation mit einer Strahlendosis von 6500 r behandelt wird.

4. Diese Ergebnisse werden im Zusammenhang mit der Frage des Mechanismus der Geschlechtsdetermination bei *Hydra* diskutiert.

Résumé

1. Chez *Hydra attenuata* (Pall.), dont la détermination du sexe correspond à un gonochorisme labile, les inversions du sexe sont relativement fréquentes tandis que les cas d'hermaphrodisme sont extrêmement rares.

2. La grande majorité des chimères bisexuées obtenues par greffe, ainsi que leurs bourgeons, adoptent le sexe mâle. Il suffit de transplanter un fragment mâle relativement petit pour masculiniser la partie complémentaire femelle.

3. L'effet masculinisant de la greffe mâle est supprimé lorsque celle-ci est exposée à l'effet des rayons X avant d'être mise en parabiose.

4. Ces résultats sont discutés en relation avec le problème du mécanisme de la détermination du sexe chez l'Hydre.

Summary

1. Sex determination in *Hydra attenuata* (Pall.) corresponds to a unbalanced hermaphroditism. Although inversions of the sex occur frequently, cases of true hermaphroditism are rare.

2. When complementary fragments of male and female polyps are grafted in various combinations the sex of the chimaera and their asexual offsprings is — with few exceptions — always male. This holds also when a male stalk is transplanted to a large female fragment.

3. The masculinizing effect of male grafts is, however, suppressed when the latter are subjected to X-ray treatment (6500 r) before being grafted onto female partners.

4. The significance of these findings for the problem of sex determination in hydra are discussed.

LITERATURVERZEICHNIS

Bacci, G. 1950. *Alcuni problemi dell'ermafroditismo negli Invertebrati.* Boll. Zool. 17: 193-212, Suppl.

Brien, P. 1953. *La perennité somatique.* Biol. Rev. 28: 308-349.

— 1962. *Contribution à l'étude de la biologie sexuelle: Induction gamétique et sexuelle chez les Hydres d'eau douce par des greffes en parabiose.* Bull. Acad. Roy. Belg. Cl. Sci. 48: 825-847.

— 1964. *Blastogénèse et gamétogénèse.* In: *L'origine de la lignée germinale*, 21-75. Herman, Paris.

— et M. Reniers-Decoen. 1951. *La gamétogénèse et l'intersexualité chez Hydra attenuata Pall.* Ann. Soc. Roy. Zool. Belg. 82: 285-327.

— 1955. *La signification des cellules interstitielles des Hydres d'eau douce et le problème de la réserve embryonnaire.* Bull. Biol. 89: 258-325.

Burnett, A. L. 1965. *Growth and cell differentiation in Hydra.* In: *Biological Research*, Western Reserve University, 8-9.

Evlakhova, V. F. 1946. *Form-building migration of regenerative material in Hydra.* C. r. (Doklady) Acad. Sci. URSS 53: 369-372.

GOETSCH, W. 1922. *Hermaphroditismus und Gonochorismus bei Hydrozoen.* Zool. Anz. 54: 6-18.

KUWABARA, M. 1936. *Beiträge zur Kenntnis der Sexualität von Süsswasserhydroiden. I. Die sexuellen Rassen von Hydra attenuata.* Jour. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Ser. VI, 5:95-111.

STRELIN, G. S. 1928. *Röntgenologische Untersuchungen an Hydren.* Roux' Arch. 115: 27-51.

TARDENT, P. 1954. *Axiale Verteilungs-Gradienten der interstitiellen Zellen bei Hydra und Tubularia und ihre Bedeutung für die Regeneration.* Roux' Arch. 146: 593-649.

— 1966. *Zur Sexualbiologie von Hydra attenuata Pall.* Rev. suisse Zool. 73: 357-381.

— und U. MORGENTHALER. 1966. *Autoradiographische Untersuchungen der Zellwanderung bei Hydra attenuata Pall.* Rev. suisse Zool. 73: 468-480.

WIESE, L. 1953. *Geschlechtsverhältnisse und Geschlechtsbestimmung bei Süsswasserhydroiden.* Zool. Jahrb. Abt. Zool. 64: 55-83.

ZAWARZIN, A. A. 1928. *Röntgenologische Untersuchungen an Hydren.* Roux' Arch. 115: 1-26.

N° 30. **J. Gallera,** Genève. — Mise en évidence du rôle de l'ectoblaste dans la différenciation des somites chez les Oiseaux [1]. (Avec 5 figures dans le texte)

Laboratoire d'Embryologie expérimentale, Institut d'Anatomie, Université de Genève.

INTRODUCTION

Plusieurs auteurs ont tenté d'analyser expérimentalement le problème de la segmentation du matériel somitique chez les Oiseaux (GRÜNWALD 1936, SPRATT 1955 et BELLAIRS 1963, pour ne citer que les recherches les plus importantes). En ce qui concerne la différenciation tardive des différents dérivés des somites, nous sommes particulièrement bien renseignés sur les facteurs responsables de la

[1] Travail subventionné par le Fonds national suisse de la Recherche scientifique.